

PCT

ORGANISATION MONDIALE DE LA PROPRIÉTÉ INTELLECTUELLE
Bureau international

DEMANDE INTERNATIONALE PUBLIÉE EN VERTU DU TRAITE DE COOPERATION EN MATIÈRE DE BREVETS (PCT)

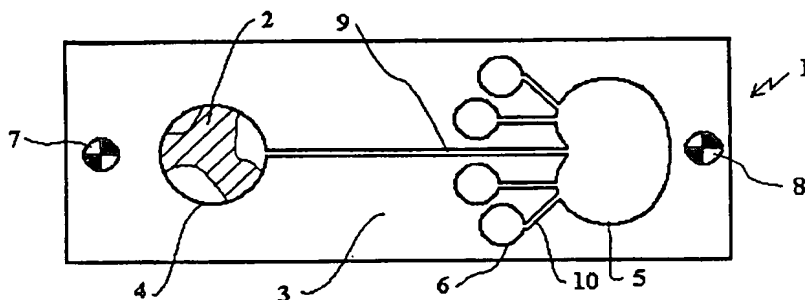
| | | |
|--|--|---|
| (51) Classification internationale des brevets ⁷ : B01L 3/00, G01N 21/07 | A1 | (11) Numéro de publication internationale: WO 00/53317 (43) Date de publication internationale: 14 septembre 2000 (14.09.00) |
| (21) Numéro de la demande internationale: PCT/FR00/00577 (22) Date de dépôt international: 9 mars 2000 (09.03.00) (30) Données relatives à la priorité: 99/03032 9 mars 1999 (09.03.99) FR (71) Déposant (pour tous les Etats désignés sauf US): BIOMERIEUX S.A. [FR/FR]; Chemin de l'Orme, F-69280 Marcy l'Etoile (FR). (72) Inventeur; et (75) Inventeur/Déposant (US seulement): COLIN, Bruno [FR/FR]; 23, chemin des Garennes, F-69280 Marcy l'Etoile (FR). (74) Mandataire: BONNEAU, Gérard; Cabinet Bonneau, 7, avenue Gazan, F-06600 Antibes (FR). | (81) Etats désignés: AE, AL, AM, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BR, BY, CA, CH, CN, CU, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KP, KR, KZ, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LV, MD, MG, MK, MN, MW, MX, NO, NZ, PL, PT, RO, RU, SD, SE, SG, SI, SK, SL, TJ, TM, TR, TT, UA, UG, US, UZ, VN, YU, ZA, ZW, brevet ARIPO (GH, GM, KE, LS, MW, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZW), brevet eurasién (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), brevet européen (AT, BE, CH, CY, DE, DK, ES, FI, FR, GB, GR, IE, IT, LU, MC, NL, PT, SE), brevet OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG). Publiée Avec rapport de recherche internationale. | |

(54) Title: METHOD AND APPARATUS FOR FLUID TRANSFER BY SEVERAL CENTRIFUGING OPERATIONS

(54) Titre: PROCEDE ET APPAREIL DE TRANSFERT D'UN FLUIDE PAR PLUSIEURS CENTRIFUGATIONS

(57) Abstract

The invention concerns a method for transferring fluid (2) from at least one initial compartment (4) towards a final receiving compartment (6) via at least one transfer flow path (9 and 10), the transfer being carried out by the action of a centrifugal force, the method consisting in: performing a first centrifuging operation, said to be primary, for transferring the fluid (2) from its initial compartment (4) towards an intermediate compartment (5), via a primary transfer flow path (9); and performing at least a second centrifuging operation, said to be secondary, whereof the axis of centrifugation (8) is different from that (7) of the first centrifuging operation, to transfer the fluid (2) from the intermediate compartment (5) towards the final receiving compartment (6), via a secondary transfer flow path (10). The invention is particularly applicable to microfluidic devices used in biology. The invention also concerns an apparatus (1) for implementing said method.



(57) Abrégé

La présente invention concerne un procédé de transfert d'un fluide (2) depuis au moins un compartiment de départ (4) vers au moins un compartiment d'arrivée (6), via au moins un canal de transfert (9 et 10), le transfert s'effectuant sous l'action de la force centrifuge, le procédé consiste à: effectuer une première centrifugation, dite primaire, pour transférer le fluide (2) de son compartiment de départ (4) vers un compartiment intermédiaire (5), via un canal de transfert primaire (9), et effectuer au moins une seconde centrifugation, dite secondaire, dont l'axe de centrifugation (8) est différent de celui (7) de la première centrifugation, pour transférer le fluide (2) du compartiment intermédiaire (5) vers le compartiment d'arrivée (6), via un canal de transfert secondaire (10). L'invention concerne également un appareil (1) pour mettre en oeuvre un tel procédé. L'invention trouve une application préférentielle dans le domaine de la microfluidique appliquée à la biologie.

UNIQUEMENT A TITRE D'INFORMATION

Codes utilisés pour identifier les Etats parties au PCT, sur les pages de couverture des brochures publiant des demandes internationales en vertu du PCT.

| | | | | | | | |
|----|---------------------------|----|---|----|--|----|-----------------------|
| AL | Albanie | ES | Espagne | LS | Lesotho | SI | Slovénie |
| AM | Arménie | FI | Finlande | LT | Lituanie | SK | Slovaquie |
| AT | Autriche | FR | France | LU | Luxembourg | SN | Sénégal |
| AU | Australie | GA | Gabon | LV | Lettonie | SZ | Swaziland |
| AZ | Azerbaïdjan | GB | Royaume-Uni | MC | Monaco | TD | Tchad |
| BA | Bosnie-Herzégovine | GE | Géorgie | MD | République de Moldova | TG | Togo |
| BB | Barbade | GH | Ghana | MG | Madagascar | TJ | Tadjikistan |
| BE | Belgique | GN | Guinée | MK | Ex-République yougoslave de Macédoine | TM | Turkménistan |
| BF | Burkina Faso | GR | Grèce | ML | Mali | TR | Turquie |
| BG | Bulgarie | HU | Hongrie | MN | Mongolie | TT | Trinité-et-Tobago |
| BJ | Bénin | IE | Irlande | MR | Mauritanie | UA | Ukraine |
| BR | Brésil | IL | Israël | MW | Malawi | UG | Ouganda |
| BY | Bélarus | IS | Islande | MX | Mexique | US | Etats-Unis d'Amérique |
| CA | Canada | IT | Italie | NE | Niger | UZ | Ouzbékistan |
| CF | République centrafricaine | JP | Japon | NL | Pays-Bas | VN | Viet Nam |
| CG | Congo | KE | Kenya | NO | Norvège | YU | Yougoslavie |
| CH | Suisse | KG | Kirghizistan | NZ | Nouvelle-Zélande | ZW | Zimbabwe |
| CI | Côte d'Ivoire | KP | République populaire démocratique de Corée | PL | Pologne | | |
| CM | Cameroon | KR | République de Corée | PT | Portugal | | |
| CN | Chine | KZ | Kazakhstan | RO | Roumanie | | |
| CU | Cuba | LC | Sainte-Lucie | RU | Fédération de Russie | | |
| CZ | République tchèque | LI | Liechtenstein | SD | Soudan | | |
| DE | Allemagne | LK | Sri Lanka | SE | Suède | | |
| DK | Danemark | LR | Libéria | SG | Singapour | | |
| EE | Estonie | | | | | | |

Procédé et appareil de transfert d'un fluide par plusieurs centrifugations**DESCRIPTION**

La présente invention concerne un procédé et un appareil de transfert d'un fluide et plus particulièrement d'un liquide, depuis un compartiment de départ vers un
5 compartiment d'arrivée, via un canal de transfert, le transfert s'effectuant sous l'action de la force centrifuge

*L'état de la technique est constitué par le document FR-A-2.678.379 a pour objet le transfert d'un liquide dans un dispositif de prélèvement et de restitution d'une
10 quantité prédéterminée de liquide. Ce dispositif est de forme tubulaire qui contient au voisinage de sa périphérie un canal hélicoïdal borgne qui comporte l'axe de centrifugation comme axe de symétrie. Lorsque le dispositif est placé avec l'ouverture de son canal interne au contact d'un liquide, selon un sens de rotation, le liquide monte dans le dispositif, alors que dans le sens inverse, il en sort.*

15 Ce dispositif ne permet que le prélèvement et la distribution d'un liquide prélevé. Il n'y a aucune possibilité d'orientation du liquide en interne. La polyvalence de ce système est très limitée, et ce d'autant plus que pour que le prélèvement reste dans le dispositif, il convient de maintenir la centrifugation.

*Selon une autre forme de réalisation, la centrifugation peut être plus
20 polyvalente et donc être intégrée dans un appareil permettant de mener des réactions biologiques multiples. Ainsi, de nombreux documents qui sont assez proches les uns des autres. C'est par exemple le cas des brevets US-A-3,744,975, US-A-4,123,173 et US-A-4,225,558, qui proposent un appareil de forme plate et cylindrique, dont le centre est occupé par un axe de rotation. Cet axe permet donc de transférer les liquides, que cet
25 appareil contient, du centre dudit appareil vers sa périphérie, sous l'action de la force centrifuge.*

Toutefois, il n'est pas envisageable d'effectuer un transfert dans le sens inverse, c'est-à-dire selon la force centripète. L'orientation des liquides ne peut donc s'effectuer que selon la force centrifuge.

30 *Les documents US-A-4,812,294, EP-A-0.297.394 et US-A-4,788,154 décrivent des appareils et des procédés, qui permettent des déplacements de liquides selon*

plusieurs directions, en fonction de la force centrifuge exercée par plusieurs axes de centrifugation.

Néanmoins, aucun de ces documents ne concerne une configuration particulière entre l'axe selon lequel s'applique la force centrifuge et la disposition, d'une part, du
5 compartiment de départ ou intermédiaire, dans un premier temps, et du compartiment intermédiaire ou d'arrivée, dans un second temps, et d'autre part, du canal entre ces compartiments. De plus, l'invention selon la demanderesse permet de répartir des liquides dans des proportions établies en fonction de la configuration et de la présence d'au moins deux compartiments intermédiaires pour un compartiment de départ, et/ou
10 d'au moins deux compartiments d'arrivée pour un compartiment intermédiaire.

Conformément à la présente invention, il est proposé un procédé dont la mise en œuvre est encore plus polyvalente, permet des mouvements dans tous les compartiments de l'appareil en s'affranchissant des effets d'une centrifugation unique, et une répartition des liquides dans des proportions établies.

15 L'invention concerne également un procédé mettant en œuvre un tel appareil.

A cet effet, la présente invention concerne un procédé de transfert d'un fluide depuis au moins un compartiment de départ vers au moins un compartiment d'arrivée, via au moins un canal de transfert, le transfert s'effectuant sous l'action de la force
20 centrifuge, le procédé consiste à :

- effectuer une première centrifugation, dite primaire, pour transférer le fluide de son compartiment de départ vers un compartiment intermédiaire, via un canal de transfert primaire, et

- effectuer au moins une seconde centrifugation, dite secondaire, dont l'axe de
25 centrifugation est différent de celui de la première centrifugation, pour transférer le fluide du compartiment intermédiaire vers le compartiment d'arrivée, via un canal de transfert secondaire,

il est caractérisé en ce que le compartiment intermédiaire est associé à au moins deux compartiments d'arrivée, chaque compartiment d'arrivée étant relié au compartiment
30 intermédiaire par un canal de transfert secondaire, et qu'il consiste à effectuer au moins

une centrifugation secondaire, permettant l'orientation du fluide présent dans ledit compartiment intermédiaire vers les au moins deux compartiments d'arrivée.

L'invention concerne également un appareil de transfert d'un fluide constitué d'un corps qui comporte au moins un compartiment de départ, au moins un
5 compartiment d'arrivée et au moins un canal de transfert, cet appareil comporte également au moins deux axes de centrifugation, un axe primaire, pour transférer le fluide de son compartiment de départ vers un compartiment intermédiaire, via un canal de transfert primaire, et au moins un axe secondaire, différent de l'axe primaire, pour transférer ledit fluide du compartiment intermédiaire vers le compartiment d'arrivée,
10 via un canal de transfert secondaire. Cet appareil est caractérisé par le fait que chaque axe de centrifugation coupe sensiblement perpendiculairement un axe imaginaire passant par le compartiment, où le fluide est présent, et par le compartiment, où le fluide doit être envoyé sous l'action de la centrifugation selon l'axe de centrifugation concerné, et positionné entre ledit compartiment, où le fluide est présent, et le bord dudit appareil.
15

Selon une variante de réalisation, chaque canal de transfert entre deux compartiments est sensiblement positionné le long de l'axe imaginaire passant par les deux compartiments, de part et d'autre du canal concerné.

Selon une autre variante de réalisation, chaque canal de transfert entre deux
20 compartiments est associé à un axe de centrifugation.

Selon encore une variante de réalisation, chaque canal de transfert est rectiligne et passe par le centre de gravité des deux compartiments, situés de part et d'autre dudit canal de transfert concerné.

Toujours selon une variante de réalisation, chaque canal de transfert comporte
25 un moyen de blocage, tel qu'une vanne à bille, qui empêche le passage d'un fluide transféré ou à transférer.

Selon une autre variante de réalisation, le compartiment intermédiaire est associé à au moins deux compartiments d'arrivée adjacents, chaque compartiment d'arrivée étant relié au compartiment intermédiaire par un canal de transfert secondaire,
30 et ces compartiments d'arrivée sont associés à un seul axe de centrifugation qui permet la répartition entre les compartiments d'arrivée adjacents.

Selon une variante différente de réalisation, le compartiment intermédiaire comporte, au niveau des zones d'intersection avec les canaux de transfert secondaires, qui correspondent aux compartiments d'arrivée adjacents, des configurations qui permettent, sous l'action de la centrifugation, l'orientation du fluide de départ au niveau desdits canaux et une répartition équitable entre lesdits compartiments d'arrivée adjacents.

Un tel appareil est utilisable pour l'analyse d'un ou plusieurs échantillons liquides différents dans lequel on cherche à identifier un ou plusieurs analytes, selon tous les processus simples ou complexes d'analyse mettant en jeu un ou plusieurs réactifs différents selon la nature chimique, physique ou biologique du ou des analytes recherchés. Les principes techniques définis ci-après ne sont pas limités à un analyte particulier, la seule condition requise étant que l'analyte soit distribué dans l'échantillon à analyser en suspension ou en solution. En particulier, le processus d'analyse mis en œuvre peut être effectué, sous forme homogène ou hétérogène ou mixte.

Un mode particulier, non limitatif d'un tel appareil, concerne l'analyse biologique, d'un ou plusieurs ligands, nécessitant pour leur détection et/ou leur quantification l'utilisation d'un ou plusieurs anti-ligands. Par ligand, on entend toute espèce biologique comme par exemple, un antigène, un fragment d'antigène, un peptide, un anticorps, un fragment d'anticorps, un haptène, un acide nucléique, un fragment d'acide nucléique, une hormone, une vitamine. Un exemple d'application des techniques d'analyse concerne les immunoessais, quelque soit leur format, par analyse directe ou par compétition. Un autre exemple d'application concerne la détection et/ou la quantification d'acides nucléiques comprenant l'ensemble des opérations nécessaires à cette détection et/ou cette quantification à partir d'un prélèvement quelconque contenant les acides nucléiques cibles. Parmi ces différentes opérations on peut citer la lyse, la fluidification, la concentration, les étapes d'amplification enzymatique des acides nucléiques, les étapes de détection incorporant une étape d'hybridation utilisant par exemple une puce à ADN ou une sonde marquée. La demande de brevet WO-A-97/02357 explicite différentes étapes nécessaires dans le cas d'analyse d'acides nucléiques.

Les figures ci-jointes sont données à titre d'exemple explicatif et n'ont aucun caractère limitatif. Elles permettront de mieux comprendre l'invention.

La figure 1 représente une vue en élévation d'un premier mode de réalisation de la présente invention, avant la première centrifugation.

La figure 2 représente une vue en élévation d'un premier mode de réalisation de la présente invention, après la première centrifugation et avant la seconde centrifugation.

La figure 3 représente une vue en élévation d'un premier mode de réalisation de la présente invention, après la seconde centrifugation.

La figure 4 représente une vue en élévation d'un deuxième mode de réalisation de la présente invention.

Enfin, la figure 5 représente une vue en élévation d'un troisième mode de réalisation de la présente invention.

La présente invention concerne un nouveau procédé de transfert d'un liquide 2 dans un appareil de transfert 1 constitué d'un corps 3. Comme on le remarque sur les figures, l'appareil 1 a la forme sensiblement d'un parallélépipède même si on ne voit que la face supérieure de cet appareil ou carte 1.

En terme de réalisation, cette carte est obtenue par usinage d'une matière plastique technique comme par exemple le polystyrène choc référence R540E de la société GOODFELLOW, compatible avec les liquides traités. Dans un mode de réalisation industriel, la carte pourrait être obtenue par moulage de précision, mais toutes autres méthodes de fabrication et notamment celles utilisées dans les techniques de semi-conducteur comme celles décrites dans la demande de brevet WO-A-97/02357 sont utilisables pour la fabrication de ladite carte.

Sur les figures 1 à 3, un premier mode de réalisation est représenté. L'objectif de ce procédé est de permettre le transfert de l'échantillon 2, contenu dans un compartiment de départ 4, vers quatre compartiments d'arrivée référencés 6. Cet appareil 1 comporte donc un premier compartiment de départ 4 situé sur la gauche de

l'ensemble de ces figures. Il est possible de passer par un compartiment intermédiaire 5 qui a une forme sensiblement de « haricot », ce compartiment intermédiaire 5 étant situé en position médiane, du point de vue du transit, entre le compartiment de départ 4 et les compartiments d'arrivée 6 qui sont au nombre de quatre sur ces figures. Néanmoins les compartiments 6 ne sont pas positionnés sur la droite de l'ensemble des figures, cette position étant occupée par le compartiment intermédiaire 5. La position physique des compartiments sera développée plus loin en relation avec les différentes étapes du procédé de transfert.

Bien entendu, des canaux sont présents pour permettre le transfert de compartiment à compartiment. Il y a tout d'abord un canal de transfert primaire 9 qui relie le compartiment de départ 4 au compartiment intermédiaire 5 et enfin, des canaux de transfert secondaire 10 qui relient le compartiment intermédiaire 5 avec les compartiments d'arrivée 6.

Sur le mode de réalisation des figures 1 à 3, il y a un canal de transfert secondaire 10 pour chaque compartiment d'arrivée 6, l'ensemble canal 10, compartiment 6 étant indépendant pour chaque compartiment d'arrivée 6.

On remarque que la disposition générale des compartiments est telle que le compartiment de départ 4 est situé sur la gauche, que le compartiment intermédiaire 5 est situé vers la droite et que les compartiments d'arrivée 6 sont situés entre ces deux compartiments 4 et 5. Le transfert n'est donc possible que si l'on réalise une centrifugation multiple. C'est ce qui est bien expliqué sur l'ensemble de ces figures 1 à 3.

Ainsi, sur la figure 1, l'échantillon liquide 2 est présent uniquement au niveau du compartiment de départ 4. Dans cette position, l'échantillon liquide 2 est en fait dans sa position initiale soit parce qu'il vient d'être mise en place dans ce compartiment 4, soit parce qu'un canal de transfert indépendant l'a transporté jusqu'à ce compartiment 4. Un tel canal de transfert n'est pas représenté sur les figures.

Selon la figure 2, on effectue une première centrifugation selon C1 autour de l'axe primaire de centrifugation 7. Dans ce cas, le liquide 2 va selon la flèche F1 être transporté dans le compartiment intermédiaire 5 via le canal de transfert primaire 9.

Comme cela est bien représenté sur cette figure, le liquide 2 se trouve dans la position la plus éloignée possible de l'axe 7 au niveau de ce compartiment intermédiaire 5.

Selon la figure 3, on effectue une deuxième centrifugation selon C2 au niveau d'un axe secondaire de centrifugation 8. Lorsque l'on fait tourner l'ensemble de l'appareil 1, selon C2, il est aisé de comprendre que le liquide 2 va alors être transféré dans les compartiments d'arrivée 6 via les canaux de transfert secondaire 10. Ce mouvement s'effectue selon F2 de la figure 3. Là encore, les échantillons liquides 2 qui se sont répartis dans les compartiments d'arrivée 6 sont situés dans une position la plus éloignée possible par rapport à l'axe de centrifugation 8.

Afin que l'échantillon liquide 2, qui est présent au niveau du compartiment intermédiaire 5, ne revienne pas vers le compartiment de départ 4, la forme du compartiment intermédiaire est tout à fait particulière au niveau du point d'implantation des canaux de transfert secondaire 10. Ainsi, comme il a été indiqué précédemment, le compartiment intermédiaire 5 a une forme sensiblement de « haricot » de sorte qu'il existe deux lobes sur un des côtés dudit compartiment 5. Ces deux lobes encadrent le point d'intersection du compartiment intermédiaire 5 avec le canal 9. Chaque lobe est associé à deux canaux 10, la forme du compartiment 5 facilitant alors l'orientation et le transfert du liquide lors de la seconde centrifugation selon C2 vers les compartiments d'arrivée 6 en empêchant, ou du moins en minimisant, le passage du liquide dans le canal 9. Bien entendu une vanne, non représentée sur la figure, peut être positionnée sur le canal 9 pour bloquer si nécessaire le retour de liquide. Pour minimiser, ce retour de liquide dans le canal 9, le volume de liquide contenu dans le lobe inférieur du compartiment 5 doit être supérieur au volume de liquide que l'on souhaite déplacer dans les deux compartiments 6 positionnés en dessous du canal 9 sur les figures 1 à 3. Le volume du lobe du compartiment 5 est bien délimité d'un côté par une demi-droite perpendiculaire au canal 9 et positionnée à l'extrémité de ce canal 9 et de l'autre côté par l'intersection entre les canaux 10 et ce même compartiment 5. La même règle s'applique pour le lobe supérieur. Préférentiellement, pour éviter une communication fluidique entre les deux compartiments 6, le volume du lobe doit aussi être inférieur au volume total des deux compartiments 6 et des deux canaux 10 associés audits compartiments. Dans un mode de réalisation, les deux lobes ont le même volume. Dans

un autre mode de réalisation les deux lobes ont des volumes différents. Dans un mode de réalisation, les volumes des compartiments d'arrivée sont identiques. La forme et les dimensions des canaux 10 sont choisies par l'homme du métier pour réaliser une répartition homogène du liquide dans les différents compartiments d'arrivée. Dans un
5 autre mode de réalisation, les volumes des compartiments d'arrivée sont différents

Le volume total de liquide transférable par ce dispositif peut varier de 0,5 à 5000 microlitres, avantageusement de 2 à 2000 microlitres et préférentiellement de 5 à 1000 microlitres. Le volume du compartiment de départ varie dans les mêmes proportions ou peut être sensiblement plus important que le volume total à transférer.

10 A titre d'exemple, dans le mode de réalisation des figures 1 à 3, le compartiment 4 a un volume compris entre 0,1 et 0,5 ml pour un transfert de liquide de 100 microlitres vers le compartiment intermédiaire 5 d'un volume sensiblement équivalent à celui du compartiment 4. Lors de la deuxième centrifugation selon l'axe C2, 25 microlitres sont répartis dans chaque compartiment d'arrivée 6 avec une précision
15 inférieure à 5%

Bien entendu, ces formes ainsi que le nombre de canaux et de compartiments ne sont absolument pas limitatifs et il est tout à fait envisageable d'avoir d'autres configurations de carte 1 ainsi qu'un nombre différent de compartiments et de canaux.
20 C'est ce qui est représenté par exemple sur la figure 4 où la carte 11 a une forme sensiblement carrée en vue de dessus.

Il y a alors un compartiment de départ 14 présent au centre du corps 13, ce compartiment 14 étant relié via quatre canaux de transfert primaire 19 à quatre compartiments intermédiaires 15. Pour faciliter le fonctionnement des centrifugations et
25 la répartition des liquides en fonction du choix de l'utilisateur, les quatre compartiments intermédiaires sont situés de façon symétrique les uns par rapport aux autres.

On remarque également qu'il y a comme précédemment un axe primaire de centrifugation 17, un axe secondaire de centrifugation 18 mais également deux autres
30 axes de centrifugation 12. L'ensemble de ces axes a une position bien particulière. Ainsi, si l'on prend le centre du compartiment de départ 14, et que l'on trace une demi

droite depuis ce centre vers chaque centre de gravité des compartiments intermédiaires 15, chaque axe de centrifugation 17, 18 ou 12 est placé sur cette demi droite dans une position située entre le compartiment intermédiaire 15 et le bord de la carte ou appareil de transfert 11.

5 De même, il existe également des compartiments d'arrivée 16 qui sont reliés au compartiment intermédiaire 15 par des canaux de transfert secondaire 20. On remarque immédiatement que ces canaux de transfert secondaires 20 ont un point d'intersection avec le compartiment intermédiaire 15, par lequel on peut faire passer une droite passant par le centre de gravité du compartiment intermédiaire 15. Cette droite est en fait sensiblement perpendiculaire par rapport à la demi droite allant du centre de gravité du compartiment de départ 14 au centre de gravité du compartiment intermédiaire 15. On peut maintenant aisément comprendre qu'à partir d'un échantillon liquide situé au centre, c'est-à-dire au niveau du compartiment de départ 14, il est possible de choisir le compartiment intermédiaire où l'on veut transférer tout ou partie du liquide 2, non représenté sur la figure 4. Ainsi, si l'on fait tourner l'appareil 11 selon l'axe de centrifugation 17, le liquide 2 sera transféré vers le compartiment intermédiaire 15 situé à gauche de la figure 4. Une fois que le liquide 2 sera en position, il sera possible de faire une centrifugation soit selon l'axe de centrifugation 18 afin de transférer ledit liquide 2 depuis le compartiment intermédiaire 15 vers le compartiment d'arrivée 16 situé en position supérieure. Si par contre on souhaite transférer le liquide vers le compartiment d'arrivée 16 inférieur, il sera alors nécessaire de créer une centrifugation par rapport à l'axe de centrifugation 12 situé en position supérieure. Il est également tout à fait envisageable de vouloir transférer de nouveau le liquide 2 vers le compartiment de départ 14, voire même vers le compartiment intermédiaire 15 situé à droite. Dans ce cas, il faudra faire une centrifugation selon l'axe 12 situé sur la gauche de la figure. On comprend donc aisément la polyvalence d'un tel système et le nombre très important de possibilités de déplacement au sein d'une même carte.

30 Selon la figure 5, un troisième et dernier mode de réalisation d'un appareil 21 est représenté. Il est sensiblement identique à celui de la figure 4, mais on remarque qu'il y a une autre possibilité de centrifugation une fois que le liquide est arrivé au

niveau d'un des compartiments d'arrivée 26. Ainsi, chaque compartiment d'arrivée 26 est associé à deux canaux de transfert terminaux 32 qui le relie vers deux compartiments terminaux 31. Pour obtenir un liquide 2 présent dans le compartiment terminal 31 repéré sur la figure 5, il sera nécessaire de déposer l'échantillon dans le
5 compartiment de départ 24 situé au centre du corps 23 de l'appareil 21, puis d'effectuer une centrifugation selon 27 afin de transférer l'échantillon 2 vers le compartiment intermédiaire 25 situé à gauche de cette figure puis d'effectuer une centrifugation selon 28 afin de transférer ledit échantillon depuis le compartiment intermédiaire 25 vers le compartiment d'arrivée 26 et enfin, de continuer à effectuer une centrifugation selon 28
10 afin de permettre le transfert du liquide 2 dans ce compartiment terminal 31.

Bien entendu, au niveau de chaque canal, il est envisageable d'utiliser des moyens d'arrêt du liquide afin de mieux contrôler le mouvement des liquides 2 qui peuvent être introduits. Ainsi, il est possible de jouer sur la capillarité de ces canaux,
15 mais il est également possible d'installer à leur niveau des vannes qui peuvent permettre de bloquer ou non ledit canal concerné. De telles vannes sont bien décrites dans la demande de brevet déposée par la demanderesse le 9 septembre 1998 sous le numéro FR98/11383, et intitulée « Dispositif permettant des réactions, système de transfert entre dispositifs et procédé de mise en œuvre d'un tel système ».

20 De même, et bien que cela n'apparaisse pas sur les figures 1 à 4, des entrées et/ou des sorties de fluide équipent l'appareil décrit dans la présente invention afin d'en assurer le bon fonctionnement.

Afin que les centrifugations soient efficaces, il n'est pas nécessaire qu'elles
25 soient trop rapides. Une centrifugation comprise entre 2 et 10 g (symbole de l'accélération de la pesanteur), et préférentiellement entre 3 et 5 g, est tout à fait suffisante pour les liquides biologiques non visqueux. Pour des liquides visqueux, une force comprise entre 10 et 200 g est applicable.

30 Pour rendre les centrifugations les plus efficaces possibles, il est possible d'avoir autant d'axes de centrifugation que de canaux de transfert entre deux compartiments adjacents entre lesquels on veut transférer un liquide. Ainsi, sur les

figures 4 et 5, il y a que quatre axes 27, 28 et 22. Il serait également possible d'en envisager au niveau des angles de chaque appareil 11 ou 21 et ce, afin de faciliter le transfert vers les compartiments d'arrivée 16 ou 26, voire vers les compartiments terminaux 31. De plus, et toujours pour améliorer l'efficacité de ces centrifugation, ces canaux sont préférentiellement rectilignes.

REFERENCES

1. Appareil de transfert selon un premier mode de réalisation
2. Fluide ou liquide
- 5 3. Corps
4. Compartiment de départ
5. Compartiment intermédiaire
6. Compartiment d'arrivée
7. Axe primaire de centrifugation
- 10 8. Axe secondaire de centrifugation
9. Canal de transfert primaire
10. Canal de transfert secondaire
11. Appareil de transfert selon un deuxième mode de réalisation
12. Autres axes de centrifugation
- 15 13. Corps
14. Compartiment de départ
15. Compartiment intermédiaire
16. Compartiment d'arrivée
17. Axe primaire de centrifugation
- 20 18. Axe secondaire de centrifugation
19. Canal de transfert primaire
20. Canal de transfert secondaire
21. Appareil de transfert
22. Autres axes de centrifugation
- 25 23. Corps
24. Compartiment de départ
25. Compartiment intermédiaire
26. Compartiment d'arrivée
27. Axe primaire de centrifugation
- 30 28. Axe secondaire de centrifugation
29. Canal de transfert primaire

- 30. Canal de transfert secondaire
- 31. Compartiment terminal
- 32. Canal de transfert terminal
- C1. Mouvement de rotation de l'appareil 1 entraînant la première centrifugation
- 5 C2. Mouvement de rotation de l'appareil 1 entraînant la seconde centrifugation
- F1. Déplacement du liquide 2 sous l'action de la première centrifugation
- F2. Déplacement du liquide 2 sous l'action de la seconde centrifugation

REVENDICATIONS

1. Procédé de transfert d'un fluide (2) depuis au moins un compartiment de départ (4, 14 ou 24) vers au moins un compartiment d'arrivée (6, 16 ou 26), via au moins un canal de transfert (9 et 10, 19 et 20, ou 29 et 30), le transfert s'effectuant sous l'action de la force centrifuge, le procédé consiste à :

- effectuer une première centrifugation (C1), dite primaire, pour transférer le fluide (2) de son compartiment de départ (4, 14 ou 24) vers un compartiment intermédiaire (5, 15 ou 25), via un canal de transfert primaire (9, 19 ou 29), et

- effectuer au moins une seconde centrifugation (C2), dite secondaire, dont l'axe de centrifugation (8) est différent de celui (7) de la première centrifugation, pour transférer le fluide (2) du compartiment intermédiaire (5, 15 ou 25) vers le compartiment d'arrivée (6, 16 ou 26), via un canal de transfert secondaire (10, 20 ou 30),

caractérisé en ce que le compartiment intermédiaire (5, 15 ou 25) est associé à au moins deux compartiments d'arrivée (6, 16 ou 26), chaque compartiment d'arrivée (6, 16 ou 26) étant relié au compartiment intermédiaire (5, 15 ou 25) par un canal de transfert secondaire (10, 20 ou 30), et qu'il consiste à effectuer au moins une centrifugation secondaire (C2), permettant l'orientation du fluide présent dans ledit compartiment intermédiaire (5, 15 ou 25) vers les au moins deux compartiments d'arrivée (6, 16 ou 26).

2. Appareil de transfert (1, 11 ou 21) d'un fluide (2) constitué d'un corps (3, 13 ou 23) qui comporte au moins un compartiment de départ (4, 14 ou 24), au moins un compartiment d'arrivée (6, 16 ou 26) et au moins un canal de transfert (9, 19 ou 29 ou bien 10, 20 ou 30), cet appareil comporte également au moins deux axes de centrifugation (7 et 8, 17 et 18, ou 27 et 28), un axe primaire (7, 17 ou 27), pour transférer le fluide (2) de son compartiment de départ (4, 14 ou 24) vers un compartiment intermédiaire (5, 15 ou 25), via un canal de transfert primaire (9, 19 ou 29), et au moins un axe secondaire (8, 18 ou 28), différent de l'axe primaire (7, 17 ou 27), pour transférer ledit fluide (2) du compartiment intermédiaire (5, 15 ou 25) vers le compartiment d'arrivée (6, 16 ou 26), via un canal de transfert secondaire (10, 20 ou

30), caractérisé par le fait que chaque axe de centrifugation (7 ou 8, 17 ou 18, ou 27 ou 28) coupe sensiblement perpendiculairement un axe imaginaire passant par le compartiment, où le fluide est présent, et par le compartiment, où le fluide doit être envoyé sous l'action de la centrifugation selon l'axe de centrifugation concerné, et positionné entre ledit compartiment, où le fluide est présent, et le bord dudit appareil (1, 11 ou 21).

3. Appareil, selon la revendication 2, caractérisé par le fait que chaque canal de transfert (9 ou 10, 19 ou 20, ou 29 ou 30) entre deux compartiments est sensiblement positionné le long de l'axe imaginaire passant par les deux compartiments, de part et d'autre du canal (9 ou 10, 19 ou 20, ou 29 ou 30) concerné.

4. Appareil, selon l'une quelconque des revendications 2 ou 3, caractérisé par le fait que chaque canal de transfert (9 ou 10, 19 ou 20, ou 29 ou 30) entre deux compartiments (4, 14 ou 24 ou 6, 16 ou 26, et 5, 15 ou 25) est associé à un axe de centrifugation (7 ou 8, 17 ou 18, ou 27 ou 28).

5. Appareil, selon l'une quelconque des revendications 2 à 4, caractérisé par le fait que chaque canal de transfert (9 ou 10, 19 ou 20, ou 29 ou 30) est rectiligne et passe par le centre de gravité des deux compartiments (4, 14 ou 24 ou 6, 16 ou 26, et 5, 15 ou 25), situés de part et d'autre dudit canal de transfert (9 ou 10, 19 ou 20, ou 29 ou 30) concerné.

6. Appareil, selon l'une quelconque des revendications 2 à 5, caractérisé par le fait que chaque canal de transfert comporte un moyen de blocage, tel qu'une vanne à bille, qui empêche le passage d'un fluide transféré ou à transférer.

7. Appareil, selon l'une quelconque des revendications 2 à 6, caractérisé par le fait que le compartiment intermédiaire (5, 15 ou 25) est associé à au moins deux compartiments d'arrivée (6, 16 ou 26) adjacents, chaque compartiment d'arrivée (6, 16 ou 26) étant relié au compartiment intermédiaire (5, 15 ou 25) par un canal de transfert

secondaire (10 20 ou 30), et que ces compartiments d'arrivée (6, 16 ou 26) sont associés à un seul axe de centrifugation (8, 18 ou 28) qui permet la répartition entre les compartiments d'arrivée (6, 16 ou 26) adjacents.

- 5 8. Appareil, selon la revendication 7, caractérisé par le fait que le compartiment intermédiaire (5, 15 ou 25) comporte, au niveau des zones d'intersection avec les canaux de transfert secondaires (10 20 ou 30), qui correspondent aux compartiments d'arrivée adjacents (6, 16 ou 26), des configurations qui permettent, sous l'action de la centrifugation (C1 ou C2), l'orientation du fluide (2) de départ au niveau desdits canaux
- 10 (10 20 ou 30) et une répartition équitable entre lesdits compartiments d'arrivée (6, 16 ou 26) adjacents.

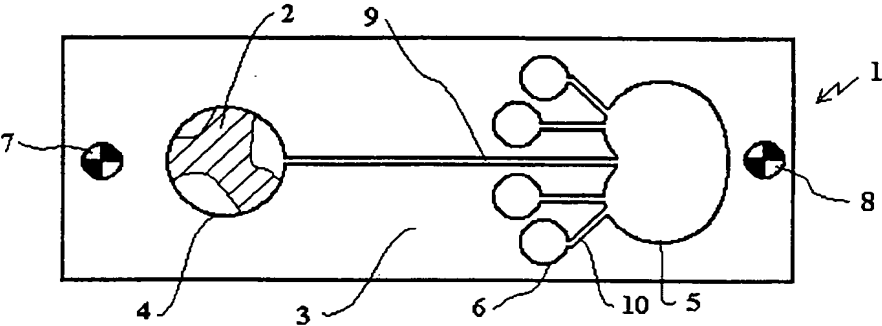


Fig. 1

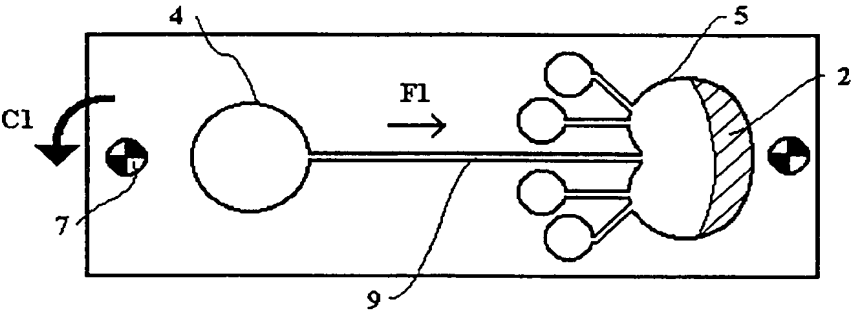


Fig. 2

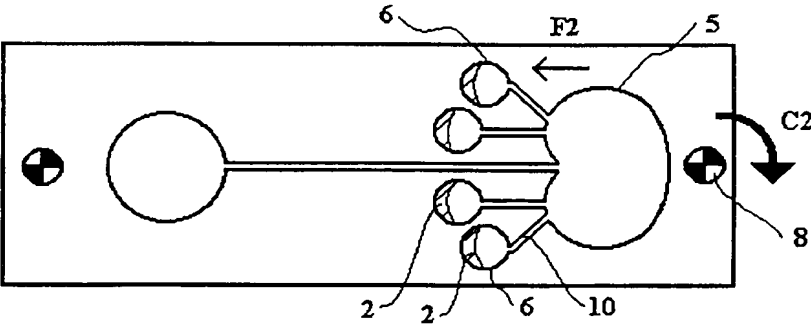
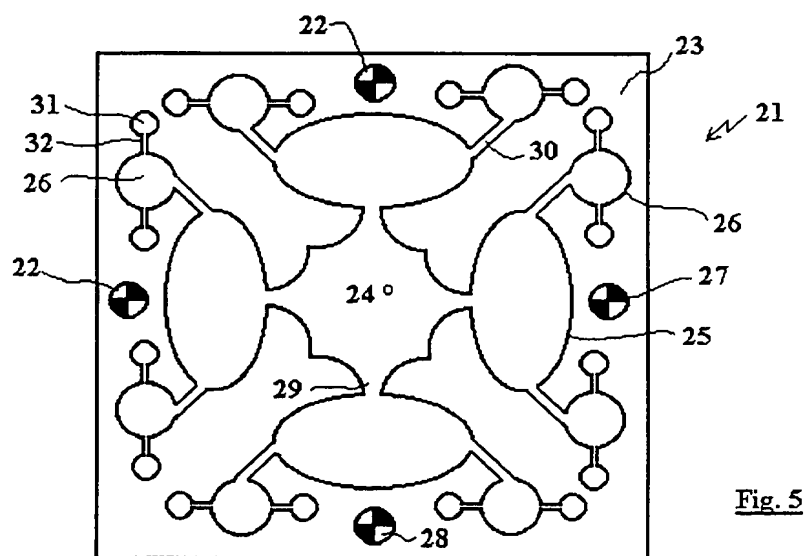
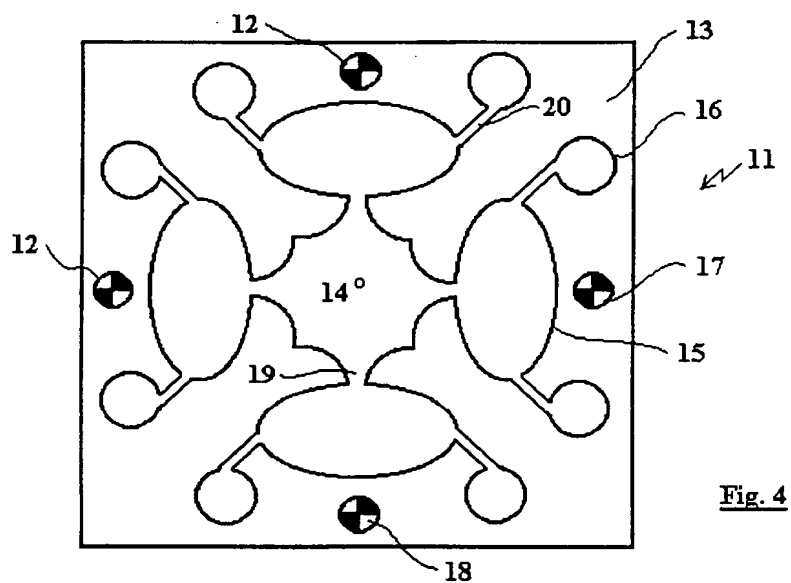


Fig. 3

2 / 2



INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International Application No
PCT/FR 00/00577

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER
IPC 7 B01L3/00 G01N21/07

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)
IPC 7 B01L G01N B04B

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the International search (name of data base and, where practical, search terms used)

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

| Category * | Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages | Relevant to claim No. |
|------------|---|-----------------------|
| A | US 4 812 294 A (COMBS JOHN W) 14 March 1989 (1989-03-14) cited in the application abstract; figure 2 column 3, line 49 -column 4, line 21 column 6, line 50 -column 8, line 35 ---- | 1-8 |
| A | EP 0 297 394 A (MILES INC) 4 January 1989 (1989-01-04) cited in the application abstract; figures 1-7 column 3, line 23 -column 3, line 36 column 4, line 10 -column 5, line 46 column 10, line 24 -column 14, line 36 ----- -/-- | 1-8 |

☒ Further documents are listed in the continuation of box C.

☒ Patent family members are listed in annex.

* Special categories of cited documents :

- "A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance
- "E" earlier document but published on or after the international filing date
- "L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)
- "O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means
- "P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

- "T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention
- "X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone
- "Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art.
- "&" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search

18 May 2000

Date of mailing of the international search report

25/05/2000

Name and mailing address of the ISA
European Patent Office, P.B. 5818 Patentlaan 2
NL - 2280 HV Rijswijk
Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl,
Fax: (+31-70) 340-3016

Authorized officer

Runser, C

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International Application No
PCT/FR 00/00577

C.(Continuation) DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

| Category * | Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages | Relevant to claim No. |
|------------|---|-----------------------|
| A | US 4 788 154 A (GUIGAN JEAN) 29 November 1988 (1988-11-29) cited in the application abstract; figures 1-10 column 1, line 45 -column 2, line 27 column 3, line 21 -column 4, line 48 | 1-8 |
| A | US 5 472 603 A (SCHEMBRI CAROL T) 5 December 1995 (1995-12-05) figures 1,2 column 9, line 43 -column 11, line 53 | 1,7,8 |

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International Application No

PCT/FR 00/00577

| Patent document cited in search report | Publication date | Patent family member(s) | Publication date |
|---|---------------------|----------------------------|---------------------|
| US 4812294 A | 14-03-1989 | GB 2190489 A | 18-11-1987 |
| EP 0297394 A | 04-01-1989 | US 4892708 A | 09-01-1990 |
| | | AU 596017 B | 12-04-1990 |
| | | AU 1850488 A | 05-01-1989 |
| | | CA 1310624 A | 24-11-1992 |
| | | DE 3882828 A | 09-09-1993 |
| | | DE 3882828 T | 11-11-1993 |
| | | IL 86398 A | 29-03-1992 |
| | | JP 1025058 A | 27-01-1989 |
| | | US 5089417 A | 18-02-1992 |
| US 4788154 A | 29-11-1988 | FR 2592170 A | 26-06-1987 |
| | | AT 51299 T | 15-04-1990 |
| | | AU 586719 B | 20-07-1989 |
| | | AU 6639286 A | 25-06-1987 |
| | | CA 1272942 A | 21-08-1990 |
| | | CN 1009764 B | 26-09-1990 |
| | | DE 3669782 D | 26-04-1990 |
| | | EP 0230618 A | 05-08-1987 |
| | | GR 3000549 T | 31-07-1991 |
| | | IL 81048 A | 26-07-1990 |
| | | IN 169762 A | 21-12-1991 |
| | | JP 1782554 C | 13-08-1993 |
| | | JP 4073747 B | 24-11-1992 |
| | | JP 62151756 A | 06-07-1987 |
| US 5472603 A | 05-12-1995 | US 5693233 A | 02-12-1997 |
| | | AU 4047493 A | 08-11-1993 |
| | | WO 9319827 A | 14-10-1993 |

RAPPORT DE RECHERCHE INTERNATIONALE

Demande internationale No

PCT/FR 00/00577

A. CLASSEMENT DE L'OBJET DE LA DEMANDE
CIB 7 B01L3/00 G01N21/07

Selon la classification internationale des brevets (CIB) ou à la fois selon la classification nationale et la CIB

B. DOMAINES SUR LESQUELS LA RECHERCHE A PORTE

Documentation minimale consultée (système de classification suivi des symboles de classement)

CIB 7 B01L G01N B04B

Documentation consultée autre que la documentation minimale dans la mesure où ces documents relèvent des domaines sur lesquels a porté la recherche

Base de données électronique consultée au cours de la recherche internationale (nom de la base de données, et si réalisable, termes de recherche utilisés)

C. DOCUMENTS CONSIDERES COMME PERTINENTS

| Catégorie | Identification des documents cités, avec, le cas échéant, l'indication des passages pertinents | no. des revendications visées |
|-----------|---|-------------------------------|
| A | US 4 812 294 A (COMBS JOHN W) 14 mars 1989 (1989-03-14) cité dans la demande abrégé; figure 2 colonne 3, ligne 49 -colonne 4, ligne 21 colonne 6, ligne 50 -colonne 8, ligne 35 | 1-8 |
| A | EP 0 297 394 A (MILES INC) 4 janvier 1989 (1989-01-04) cité dans la demande abrégé; figures 1-7 colonne 3, ligne 23 -colonne 3, ligne 36 colonne 4, ligne 10 -colonne 5, ligne 46 colonne 10, ligne 24 -colonne 14, ligne 36 -/- | 1-8 |

☒ Voir la suite du cadre C pour la fin de la liste des documents

☒ Les documents de familles de brevets sont indiqués en annexe

* Catégories spéciales de documents cités:

"A" document définissant l'état général de la technique, non considéré comme particulièrement pertinent

"E" document antérieur, mais publié à la date de dépôt international ou après cette date

"L" document pouvant jeter un doute sur une revendication de priorité ou cité pour déterminer la date de publication d'une autre citation ou pour une raison spéciale (telle qu'indiquée)

"O" document se référant à une divulgation orale, à un usage, à une exposition ou tous autres moyens

"P" document publié avant la date de dépôt international, mais postérieurement à la date de priorité revendiquée

"T" document ultérieur publié après la date de dépôt international ou la date de priorité et n'appartenant pas à l'état de la technique pertinent, mais cité pour comprendre le principe ou la théorie constituant la base de l'invention

"X" document particulièrement pertinent; l'invention revendiquée ne peut être considérée comme nouvelle ou comme impliquant une activité inventive par rapport au document considéré isolément

"Y" document particulièrement pertinent; l'invention revendiquée ne peut être considérée comme impliquant une activité inventive lorsque le document est associé à un ou plusieurs autres documents de même nature, cette combinaison étant évidente pour une personne du métier

"Z" document qui fait partie de la même famille de brevets

Date à laquelle la recherche internationale a été effectivement achevée

18 mai 2000

Date d'expédition du présent rapport de recherche internationale

25/05/2000

Nom et adresse postale de l'administration chargée de la recherche internationale
Office Européen des Brevets, P.B. 5818 Patentlaan 2
NL - 2280 HV Rijswijk
Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 851 epo nl,
Fax: (+31-70) 340-3018

Fonctionnaire autorisé

Runser, C

RAPPORT DE RECHERCHE INTERNATIONALE

Deman internationale No

PCT/FR 00/00577

C.(suite) DOCUMENTS CONSIDERES COMME PERTINENTS

| Catégorie | Identification des documents cités, avec, le cas échéant, l'indication des passages pertinents | no. des revendications visées |
|-----------|---|-------------------------------|
| A | US 4 788 154 A (GUIGAN JEAN) 29 novembre 1988 (1988-11-29) cité dans la demande abrégé; figures 1-10 colonne 1, ligne 45 -colonne 2, ligne 27 colonne 3, ligne 21 -colonne 4, ligne 48 | 1-8 |
| A | US 5 472 603 A (SCHEMBRI CAROL T) 5 décembre 1995 (1995-12-05) figures 1,2 colonne 9, ligne 43 -colonne 11, ligne 53 | 1,7,8 |

RAPPORT DE RECHERCHE INTERNATIONALE

Renseignements relatifs aux membres de familles de brevets

Demande internationale No

PCT/FR 00/00577

| Document brevet cité au rapport de recherche | Date de publication | Membre(s) de la famille de brevet(s) | Date de publication |
|---|------------------------|---|------------------------|
| US 4812294 A | 14-03-1989 | GB 2190489 A | 18-11-1987 |
| EP 0297394 A | 04-01-1989 | US 4892708 A | 09-01-1990 |
| | | AU 596017 B | 12-04-1990 |
| | | AU 1850488 A | 05-01-1989 |
| | | CA 1310624 A | 24-11-1992 |
| | | DE 3882828 A | 09-09-1993 |
| | | DE 3882828 T | 11-11-1993 |
| | | IL 86398 A | 29-03-1992 |
| | | JP 1025058 A | 27-01-1989 |
| | | US 5089417 A | 18-02-1992 |
| US 4788154 A | 29-11-1988 | FR 2592170 A | 26-06-1987 |
| | | AT 51299 T | 15-04-1990 |
| | | AU 586719 B | 20-07-1989 |
| | | AU 6639286 A | 25-06-1987 |
| | | CA 1272942 A | 21-08-1990 |
| | | CN 1009764 B | 26-09-1990 |
| | | DE 3669782 D | 26-04-1990 |
| | | EP 0230618 A | 05-08-1987 |
| | | GR 3000549 T | 31-07-1991 |
| | | IL 81048 A | 26-07-1990 |
| | | IN 169762 A | 21-12-1991 |
| | | JP 1782554 C | 13-08-1993 |
| | | JP 4073747 B | 24-11-1992 |
| | | JP 62151756 A | 06-07-1987 |
| US 5472603 A | 05-12-1995 | US 5693233 A | 02-12-1997 |
| | | AU 4047493 A | 08-11-1993 |
| | | WO 9319827 A | 14-10-1993 |